sebia

HYDRAGEL 1 IF *Violet Acide / Acid Violet*

Ref. 4801

HYDRAGEL 2 IF *Violet Acide / Acid Violet*

Ref. 4802

HYDRAGEL 4 IF *Violet Acide / Acid Violet*

Ref. 4804

Ref. 4881*

HYDRAGEL 4 IF *Amidoschwarz / Amidoblack*

Ref. 4808

HYDRAGEL 9 IF *Violet Acide / Acid Violet*

Ref. 4809

Ref. 4882**

Masque standard / Standard mask

IVD

CE

2012/03

ESPECIFICACIONES DE USO

Los kits HYDRAGEL 1 IF, 2 IF, 4 IF y 9 IF permiten la detección de proteínas monoclonales en el suero y la orina humanos, mediante inmunofijación en gel de agarosa en el sistema semiautomático HYDRASYS. Las proteínas, separadas mediante electroforesis en geles de agarosa tamponados alcalinos, son incubadas con antisueros individuales que son específicos para las cadenas pesadas gamma (Ig G), alfa (Ig A) y mu (Ig M), y para las cadenas ligeras kappa (libre y unida) y lambda (libre y unida), respectivamente.
Después de eliminar las proteínas que no han reaccionado, los inmunoprecipitados son teñidos o bien con violeta ácido o bien con negro amido. Los electroforetogramas son evaluados visualmente para detectar la presencia de reacciones específicas con las proteínas monoclonales sospechosas.

Cada gel de agarosa está pensado para analizar:
- 1 muestra en el kit HYDRAGEL 1 IF,
- 2 muestras en el kit HYDRAGEL 2 IF,
- 4 muestras en los kits HYDRAGEL 4 IF,
- 9 muestras en los kits HYDRAGEL 9 IF.

Los kits HYDRAGEL 4 IF están disponibles con el colorante violeta ácido o con negro amido.

Para uso diagnóstico *In Vitro*.

NOTA : En estas instrucciones, el nombre "HYDRASYS" es usado para designar los sistemas semiautomáticos HYDRASYS e HYDRASYS 2, SEBIA.

PRINCIPIO DEL TEST

Las bandas anormales de las separaciones electroforéticas de proteínas de suero y orina, principalmente aquellas situadas en las fracciones de beta globulinas y de gamma globulinas, son siempre sospechosas de ser proteínas monoclonales (proteínas-M, paraproteínas, inmunoglobulinas monoclonales) y por lo tanto, son un indicio de gammapatías monoclonales. Para identificar esas bandas anormales se aplica la técnica de la inmunofijación.
La electroforesis seguida de inmunofijación es una técnica sencilla que permite que una proteína sea retenida después de la electroforesis, *in situ*, mediante la formación de un complejo insoluble con su anticuerpo. Es fácil de realizar en cuatro etapas y de fácil interpretación:
1. Separación de proteínas mediante electroforesis en gel de agarosa.
2. Inmunofijación (inmunoprecipitación) de las proteínas separadas electroforéticamente – los carriles de migración electroforética apropiados son recubiertos con los antisueros individuales. Los antisueros difunden dentro del gel y precipitan los antígenos correspondientes cuando están presentes. Las proteínas del carril de referencia son fijadas con una solución fijadora.
3. Las proteínas solubles no precipitadas se eliminan del gel mediante un blotting y un lavado. La precipitación del complejo antígeno- anticuerpo queda ifijado en la matriz del gel.
4. Los precipitados y las proteÌnas fijadas son visualizados mediante tinción.

Para detectar e identificar el componente monoclonal sospechoso, la muestra es sometida a electroforesis en seis carriles de forma simultánea. Después de la electroforesis, un carril sirve de referencia, proporcionando un patrón electroforético completo de las proteínas de la muestra. Los cinco carriles restantes permiten la caracterización del componente monoclonal a partir de su reacción, o de la ausencia de la misma, con los antisueros para cadenas pesadas gamma (Ig G), alfa (Ig A) y mu (Ig M), y para las cadenas ligeras kappa y lambda libres y unidas. Las bandas inmunofijadas se comparan entonces con las bandas sospechosas del patrón de referencia – la banda correspondiente debería tener la misma posición de migración.

REACTIVOS Y MATERIALES SUMINISTRADOS EN LOS KITS HYDRAGEL 1, 2, 4 E 9 IF

ATENCIÓN : Ver las fichas de datos de seguridad.

KIT HYDRAGEL 1 IF KIT HYDRAGEL 2 IF KITS HYDRAGEL 4 IF KITS HYDRAGEL 9 IF	**PN 4801 PN 4802**	**PN 4804 PN 4809**	**PN 4808**	**PN 4881* PN 4882****
Geles de Agarosa (listos para su uso)	10 geles	10 geles	10 geles	80 geles
Esponjas tamponades (listas para su uso)	10 bolsas de 2	10 bolsas de 2	10 bolsas de 2	80 bolsas de 2
Diluyente del colorante (solución stock)			1 vial de 60 ml	
Colorante Negro Amido (solución stock)			1 vial de 20 ml	
Colorante Violeta Ácido (solución stock)	1 vial de 75 ml	1 vial de 75 ml		8 viales de 75 ml
Diluyente (listo para su uso)	1 vial de 3.2 ml	1 vial de 32 ml	1 vial de 32 ml	2 viales de 80 ml 3 viales de 80 ml
Solución Fijadora (lista para uso)				1 vial de 14.4 ml
Inmunoglobulinas totales de mamífero anti-cadenas pesadas gamma (listo para usar)				1 vial de 8.0 ml 1 vial de 10.8 ml
Inmunoglobulinas totales de mamífero anti-cadenas pesadas alfa (listo para usar)				1 vial de 8.0 ml 1 vial de 10.8 ml
Inmunoglobulinas totales de mamífero anti-cadenas pesadas mu (listo para usar)				1 vial de 8.0 ml 1 vial de 10.8 ml
Inmunoglobulinas totales de mamífero anti-cadenas ligeras kappa (libres y ligadas) (listo para usar)				1 vial de 8.0 ml 1 vial de 10.8 ml
Inmunoglobulinas totales de mamífero anti-cadenas ligeras lambda (libres y ligadas) (listo para usar)				1 vial de 8.0 ml 1 vial de 10.8 ml
Applicadores (listos para su uso)	1 caja de 10	2 cajas de 10 3 cajas de 10	2 cajas de 10	16 cajas de 10 24 cajas de 10
Papeles de Filtro-finos	1 paquete de 10	1 paquete de 10	1 paquete de 10	8 paquetes de 10
Papeles de Filtro (Peines)	1 caja de 10	2 cajas de 10 3 cajas de 10	2 cajas de 10	16 cajas de 10 24 cajas de 10
Papeles de Filtro-gruesos	1 paquete de 10	1 paquete de 10	1 paquete de 10	8 paquetes de 10

( ) HYDRAGEL 4 IF MAXI-KIT* *(**) HYDRAGEL 9 IF MAXI-KIT*

NOTA : La solución fijadora y los antisueros se comercializan por separado excepto en los MAXI-KITS (consulte REACTIVOS NECESARIOS NO SUMINISTRADOS).

Durante el transporte, el MAXI-KIT puede permanecer a temperatura ambiente (entre 15 y 30 °C) durante 15 días sin que la calidad del test se vea afectada.

PARA OBTENER RESULTADOS ÓPTIMOS :
Los elementos de un mismo kit deben utilizarse conjuntamente y según las instrucciones incluidas.
LEER ATENTAMENTE LAS INSTRUCCIONES.

1. GELES DE AGAROSA

Preparación

Los geles de agarosa están listos para usar. Cada gel contiene : agarosa ; tampón pH 9,2 ± 0,5 ; componentes inocuos a las concentraciones usadas, necesarios para un funcionamiento óptimo.

Uso

Medio de soporte para la electroforesis de proteinas e inmunofijación.

Almacenamiento, estabilidad y señales de deterioro

Almacenar los geles horizontalmente en sus recipientes protectores originales a temperatura ambiente (15 a 30 °C) o refrigerados (2 a 8 °C). Son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la caja del kit y en sus recipientes protectores. (La flecha situada en la cara frontal de la caja del kit debe apuntar hacia arriba). Evitar su almacenamiento cerca de una ventana o de una fuente de calor. Evitar variaciones importantes de temperatura durante su almacenamiento. NO CONGELAR.

Desechar cuando:

(i) haya cristales o precipitados en la superficie del gel o su textura sea muy blanda (consecuencias de la congelación del gel) ;
(ii) se observe crecimiento bacteriano o fúngico ;
(iii) se videncie una cantidad excesiva de líquido en el recipiente del gel (consecuencia de la exudación del tampón debida a un almacenamiento inadecuado).

2. ESPONJAS TAMPONADAS

Preparación

Las esponjas tamponadas están listas para usar. Cada esponja tamponada contiene : tampón pH 9,1 ± 0,5 ; componentes inocuos a las concentraciones usadas, necesarios para un funcionamiento óptimo.

Uso

Las esponjas tamponadas funcionan como reservorio de tampón de electroforesis y aseguran el contacto entre el gel y los electrodos.

Almacenamiento, estabilidad y señales de deterioro

Las esponjas tamponadas pueden conservarse a temperatura ambiente o en la nevera.
Deben ser conservadas horizontalmente en su bolsa protectora (la flecha situada en la parte frontal del kit debe apuntar hacia arriba).
Son estables hasta la fecha de caducidad indicada en el kit o en su bolsa protectora. NO LAS CONGELE.
Deseche las esponjas tamponadas si la bolsa está abierta o si las esponjas están secas.

3. DILUYENTE DEL COLORANTE (PN 4808)

Preparación

El diluyente del colorante concentrado debe ser usado como se indica en el párrafo "COLORANTE NEGRO AMIDO". Contiene una solución ácida pH ≈ 2.

Uso

Para la preparación del colorante negro amido.

Conservación, estabilidad y señales de deterioro

El diluyente del colorante concentrado puede conservarse a temperatura ambiente o en la nevera. Es estable hasta la fecha de caducidad indicada en el kit o en la etiqueta del vial de diluyente. NO LO CONGELE.
No le añada azida sódica.

4. COLORANTE NEGRO AMIDO (PN 4808)

Preparación

El colorante negro amido concentrado es una solución viscosa que puede gelificarse, lo que no afecta de ningún modo a la calidad de la solución final y su capacidad de coloración.
Para obtener una perfecta reconstitución del colorante, siempre hay que prepararlo como se indica a continuación :

1. Añada unos 15 mL de diluyente del colorante en el vial de negro amido concentrado.
2. Cierre el vial con cuidado.
3. Agite el vial intensamente durante un mínimo de 5 segundos.
4. Vierta la solución obtenida en el recipiente de preparación de la solución de coloración.
5. Repita esta operación dos veces, o tres veces si es necesario.
6. Vierta el resto de diluyente en el recipiente de preparación de la solución de coloración.
7. Complete hasta 300 mL con agua destilada o desionizada.
8. Agite esta solución de 5 a 10 minutos.

El colorante está listo para usar.

NOTA : Una reconstitución incompleta del colorante puede implicar una mala coloración de la fracción albúmina (disminución de su porcentaje o aparición de un agujero blanco en el centro de la fracción).

Después de la dilución, la solución colorante contiene : solución ácida pH ≈ 2 ; negro amido ; etilén-glicol ; componentes inocuos a las concentraciones usadas, necesarios para un funcionamiento óptimo.

Uso

Para la coloración de los geles después de la separación electroforética de las proteínas.

IMPORTANTE: El colorante está destinado para colorear sólo 10 geles. Cambie el colorante después de 10 usos.

Conservación, estabilidad y señales de deterioro

Las soluciones de colorante concentrada y diluida pueden conservarse a temperatura ambiente o en la nevera, en contenedores cerrados para evitar la evaporación. La solución concentrada es estable hasta la fecha de caducidad indicada en el kit o en la etiqueta del vial de colorante.
La solución diluida es estable durante 1 mes. El período de estabilidad puede prolongarse a 3 meses si la solución diluida se conserva en nevera. Es imperativo colocar el contenedor cerrado en nevera inmediatamente después de cada uso.
No almacene la solución de colorante diluida cerca de una fuente de calor.

5. COLORANTE VIOLETA ACIDO (PN 4801, 4802, 4804, 4809, 4881 y 4882)

Preparación

El vial del colorante violeta ácido concentrado debe completarse hasta 300 mL con agua destilada o desionizada.
Después de la dilución, la solución colorante contiene : solución ácida pH ≈ 2 ; violeta ácido ; etilén-glicol ; componentes inocuos a las concentraciones usadas, necesarios para un funcionamiento óptimo.

Uso

Para la tinción de los geles con separación electroforética de proteínas y posterior inmunofijación.

IMPORTANTE: El colorante está destinado para la coloración de 10 geles. Cambie el colorante después de su utilización en 10 coloraciones.

Almacenamiento, estabilidad y señales de deterioro

Almacenar ambas soluciones, stock y de trabajo del colorante, a temperatura ambiente o refrigeradas en contenedores cerrados para evitar la evaporación. La solución stock de colorante es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la caja del kit o en las etiquetas del vial. La solución de trabajo de colorante es estable 6 meses

6. DILUYENTE

Preparación

El diluyente está listo para usar. Contiene : tampón pH 7,5 ± 0,5 ; azul de bromofenol ; componentes inocuos a las concentraciones usadas, necesarios para un funcionamiento óptimo.

Uso

Dilución de muestras. El azul de bromofenol actúa como marcador de la aplición y migración posterior.

Almacenamiento, estabilidad y señales de deterioro

Almacenar a temperatura ambiente o refrigerado.Es estable hasta la fecha de caducidad indicada en el kit o la etiqueta del vial.
El diluyente debe estar exento de precipitados.

7. SOLUCION FIJADORA (PN 4881 y 4882)

Preparación

El fijador está listo para usar. Contiene : una solución ácida pH ≈ 2 y componentes inocuos a las concentraciones usadas, necesarios para un funcionamiento óptimo. Para facilitar su identificación y como control de su aplicación, la solución fijadora está coloreada con un colorante no tóxico, del mismo color que el reflejado en la etiqueta del vial.

Uso

Fijación de las proteinas separadas electroforéticamente en la pista de referencia (ELP).

NOTA: La solución fijadora es específica de la técnica de inmunofijación realizada con las plantillas 1, 2, 4 y 9 IF.

IMPORTANTE: Para evitar cualquier contaminación entre los diferentes reactivos, es imperativo poner cada tapón sobre el vial correspondiente después de usarlo.

Almacenamiento, estabilidad y señales de deterioro

Almacenar a temperatura ambiente o refrigerada. Es estable hasta la fecha de caducidad del kit o la que muestra la etiqueta del vial.
La solución fijadora debe estar exenta de precipitados.

8. ANTISUEROS (PN 4881 y 4882)

Preparación

Los antisueros están listos para su uso. Contienen inmunoglobulinas totales de mamífero anti-humanas. Cada reactivo tiene un color específico para evitar errores al utilizarlos. El color es el mismo que el de las etiquetas de los viales.
Cuando los antisueros presentan una ligera turbidez o precipitados, generalmente basta con poner los viales a temperatura ambiente unos 10 minutos antes de su utilización. Si la turbidez persiste, no perturbará la reacción inmunológica. Si hay un precipitado insoluble, se recomienda centrifugar los antisueros durante 5 minutos a 3000 r.p.m.

Utilización

Para la inmunoprecipitación de las proteínas separadas mediante electroforesis.

NOTA: Los antisueros son específicos de la técnica de inmunofijación realizada con las plantillas 1, 2, 4 y 9 IF.

Los antisueros pueden ser de orígenes animales diferentes. Es por tanto imperativo no mezclar dos viales diferentes de antisueros, incluso si son de la misma especificidad, y SIEMPRE hay que cambiar la punta de la pipeta al cambiar de vial.

IMPORTANTE: Para evitar cualquier contaminación entre los diferentes reactivos, es imperativo poner cada tapón sobre el vial correspondiente después de usarlo.

Conservación, estabilidad y señales de deterioro

Los antisueros deben ser conservados en nevera (entre 2 y 8 °C). Son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la caja del kit o en las etiquetas de los viales de antisuero.

NOTA: Durante el transporte, los antisueros pueden permanecer a temperatura ambiente (entre 15 y 30 °C) durante 15 días sin que esto afecte a la calidad del test.

9. APLICADORES

Uso

Aplicadores precortados de un solo uso para la aplicación de la muestra.

Almacenamiento

Almacenar los aplicadores en un lugar seco a temperatura ambiente o refrigerados.

10. PAPELES DE FILTRO FINOS

Uso

Papeles finos absorbentes precortados, de un solo uso, para secar el exceso de humedad de la superficie del gel antes de la aplicación de la muestra.

Conservación

Les papeles de filtro finos deben conservarse en un lugar seco a temperatura ambiente o en la nevera.

11. PAPELES DE FILTRO PEINES

Uso

Papeles de filtro precortados, de un solo uso, para eliminar el exceso de sol. Fijadora y antisueros del gel, después de haber realizado la inmunofijación.

12. PAPELES DE FILTRO GRUESOS

Uso

Papeles de filtro gruesos, de un solo uso, para la eliminación de proteínas no precipitadas del gel, después de haber realizado la inmunofijación.

Conservación

Los papeles de filtro gruesos deben conservarse en un lugar seco a temperatura ambiente o en la nevera.

REACTIVOS NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

ATENCIÓN : Ver las fichas de datos de seguridad.

1. CAJA DE ANTISUEROS Y SOLUCIÓN FIJADORA PARA IF (para los kits 4801, 4802, 4804, 4808 y 4809)

La caja de Antisueros y Solución Fijadora para inmunofijación IF, Plantilla estándar (SEBIA, referencia N° 4815) contiene cinco viales de antisueros, anti-Ig G, anti-Ig A, anti-Ig M, anti-Kappa (cadenas ligeras libres y ligadas) y anti-Lambda (cadenas ligeras libres y ligadas) de 1 ml cada uno, y un vial de solución fijadora de 2.5 ml, **específicos de la técnica de inmunofijación realizada con las plantillas 1, 2, 4 y 9 IF, SEBIA.**

1.1. ANTISUEROS

Ver el párrafo 8.

1.2. SOLUCIÓN FIJADORA

Ver el párrafo 7.

2. SOLUCIÓN DECOLORANTE

Preparación

Cada vial de Solución Decolorante stock (SEBIA, referencia N° 4540, 10 viales de 100 ml) se diluye hasta 100 litros con agua destilada o desionizada. Es conveniente diluir sólo 5 ml de la solución stock hasta 5 litros, volumen del contenedor de la solución decolorante.
Después de la dilución, la solución decolorante contiene una solución ácida pH ≈ 2.

Uso

Para la destinción : eliminación del exceso de tinción y de fondo de los geles.
Para el lavado del compartimento de coloración.
Para neutralizar la acidez del decolorante, introduzca dentro del contenedor de desechos vacío 15 ml de sosa al 50 % (solución comercial).

Almacenamiento, estabilidad y señales de deterioro

Almacenar la solución decolorante stock a temperatura ambiente o refrigerada. La solución stock de decolorante es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la caja del kit o en las etiquetas del vial. NO CONGELAR. La solución decolorante de trabajo es estable una semana a temperatura ambiente en un contenedor cerrado. No añadir azida sódica.
Desechar la solución decolorante de trabajo si cambia su apariencia, p. ej., si se vuelve turbia debido a contaminación bacteriana.
Para evitar la proliferación microbiana en la solución decolorante diluida que se vaya a almacenar durante más de una semana, añada 5 µL/dL de ProClin 300.
El decolorante diluido al que se ha añadido ProClin es estable en un contenedor cerrado a temperatura ambiente o en la nevera hasta la fecha de caducidad indicada en el kit o en la etiqueta del vial de decolorante.

3. SOLUCIÓN DE LAVADO HYDRASYS

Preparación

Cada vial de la Solución stock de lavado HYDRASYS (SEBIA, referencia N° 4541, 10 vials, 80 ml cada una) se diluye hasta 5 litros con agua destilada o desionizada.
Después de la dilución, la solución de lavado contiene : tampón pH 8,7 ± 0,5.

Uso

Sirve patra limpiar el Compartimento de Tinción del HYDRASYS. Usar periódicamente, p. ej., si el instrumento se usa a diario, lavar el compartimento de tinción semanalmente.
Ver la hoja de instrucciones para las indicaciones de uso.

Almacenamiento, estabilidad y señales de deterioro

Almacenar ambas soluciones de lavado, stock y de trabajo, a temperatura ambiente o refrigeradas en contenedores cerrados. La solución stock de lavado es estable hasta la fecha de caducidad indicada en las etiquetas del vial.
Desechar la solución de trabajo de lavado si cambia su apariencia, p. ej., si se vuelve turbia debido a contaminación bacteriana.

4. DILUYENTE DE MUESTRAS HYDRAGEL IF

El Diluyente (SEBIA, referencia n° 4588 : 1 vial de 80 mL) está listo para usar.
Reactivo necesario para la dilución automática de las muestras.
Ver el párrafo 6 anterior.

5. FLUIDIL

Preparación

El Fluidil (SEBIA, PN 4587, 5 ml) está listo para su uso.

Uso

Para diluir muestras turbias o viscosas, p. ej., sueros que contienen crioglobulinas o criogeles.

Almacenamiento, estabilidad y señales de deterioro

Almacenar a temperatura ambiente. es estable hasta la fecha de caducidad indicada en las etiquetas del vial de Fluidil.
El Fluidil debe mostrar ausencia de precipitados.

NOTAS :

Las pruebas realizadas durante la validación de los reactivos muestran que, para las diferentes soluciones y usando material adaptado al volumen a reconstituir, una variación del volumen final de un ± 5 % no tiene ningún efecto adverso en el análisis.
El agua destilada o desionizada, usada para la reconstitución de las soluciones, debe estar exenta de contaminación bacteriana o fúngica (use un filtro de 0,22 µm) y debe tener una resistividad superior a 10 Megohms x cm.

EQUIPAMIENTO Y ACCESORIOS NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

1. Sistema HYDRASYS SEBIA : HYDRASYS 2 SCAN PN 1200, HYDRASYS 2 PN 1201, HYDRASYS 2 SCAN FOCUSING PN 1202, HYDRASYS 2 FOCUSING PN 1203, HYDRASYS PN 1210 o PN 1211 o HYDRASYS FOCUSING PN 1212.
2. Micropipeteador, manual o automatico, como el HYDRAPLUS SEBIA, PN 1216, HYDRAPLUS 2 SEBIA, PN 1217 o ASSIST SEBIA, PN 1218, para cargar los aplicadores de muestra de una forma alternativa.
3. Cámara húmeda, PN 1270, suministrada con HYDRASYS.
4. Kit de recipientes suministrado con HYDRASYS.
5. Barra de Guia de la Plantilla SEBIA, suministrada con HYDRASYS.
6. Kit de Accesorios HYDRASYS IF, SEBIA, PN 1260.
7. Kit de Accesorios HYDRASYS 9 IF, SEBIA, PN 1265.
8. Kit de Accesorios HYDRASYS 1 IF / 1 BENCE JONES, SEBIA, PN 1267.
9. Pipetas: 10 µl, 20 µl, 100 µl y 200 µl.

MUESTRAS PARA ANALISIS

Extracción y almacenamiento de las muestras

Se recomienda analizar muestras frescas. El suero y la orina deben obtenerse de acuerdo con los procedimientos establecidos de uso en los laboratorios clínicos. Refrigere las muestras (2 a 8 °C) tan pronto como sea posible después de su obtención, durante una semana. Para períodos de almacenamiento más prolongados, almacene las muestras congeladas (son estables durante un mes al menos).
Congelar los sueros con azida sódica, 0.2 g/l, mejora la estabilidad del almacenaje.
Congelar orina con HEPES 0.1 M (pH 6.75) y azida sódica, 0.2 g/l, mejora la estabilidad del almacenaje.
IMPORTANTE: No utilizar ácido bórico como conservante.
Las muestras descongeladas pueden dar lugar a ligeras marcas de aplicación debidas a la desnaturalización de proteínas o lipoproteínas.

Preparación de las muestras

1. Suero

Diluya 1 muestra para el HYDRAGEL 1 IF, 2 ó 4 muestras para el HYDRAGEL IF 2/4 según el kit y 9 muestras para el HYDRAGEL 9 IF.
Diluirlos sueros antesde su aplicación para prevenir el efecto prozona, consecuencia de elevados niveles de antígeno, mezclando de forma homogénea.

PISTA	SUERO (µl)	DILUYENTE (µl)
Pista Ig G	20	100
ELP (pista de referencia) y restantes pistas	30	60

Casos particulares

- Si la tasa de inmunoglobulinas es superior a 20 g/L (caso de hipergammaglobulinemia), se recomienda aumentar el factor de dilución de las muestras (excepto para el recorrido ELP), con el fin de obtener una concentrasción normal de inmunoglobulinas.
- Si la tasa de inmunoglobulinas es inferior a 5 g/L (caso de hipogammaglobulinemia), se recomienda disminuir el factor de dilución de las muestras.
- Para la investigación de cadenas ligeras libres séricas o urinarias, se recomienda utilizar el programa " BENCE JONES ".
  Para ello, el test podrá realizarse con el kit IF y con los antisueros ANTI-KAPPA LIBRE (SEBIA, referencia N° 4610) y ANTI-LAMBDA LIBRE (SEBIA, referencia N° 4611) o con el kit HYDRAGEL 1, 2 ó 4 BENCE JONES (SEBIA, referencias N° 4821, 4822 ó 4824).
  En caso de búsqueda de cadenas libres séricas, diluir la muestra en suero fisiológico, o en diluyente para inmunofijación prediluido a 1/4 (1 volumen de diluyente + 3 volúmenes de agua destilada o desmineralizada), a 1/10 para los recorridos ELP, GAM, K y L (1 volumen de muestra + 9 volúmenes de diluyente prediluido o suero fisiológico) y a 1/3 (1 volumen de muestra + 2 volúmenes de diluyente prediluido o suero fisiológico) para los recorridos revelados con antisueros anti-kappa libre y anti-lambda libre.
  Si la tasa de inmunoglobulinas es inferior a 5 g/L, se recomienda diluir menos la muestra; por ejemplo a 1/5 para los recorridos ELP, GAM, K y L, y a 1/2 para los recorridos Kl y Ll.

- Después de almacenados a 2 to 8 °C o congelados, algunos sueros (especialmente los que contienen crioglobulinas o criogeles) pueden volve ser viscosos o desarrollar turbidez. Tales sueros pueden presentar problemas de aplicación, debido a la difusión dificultada a través de los papeles del aplicador. En este caso, añadir 25 µl de Fluidil a 75 µl suero y mezclar durante 15 segundos. Seguir con el procedimiento habitual.
- Algunas proteinas monoclonales pueden plolimerizarse, dando lugar a una "banda monoclonal" en todas las pistas. En este caso (i) preparar una dilución al 1 % de beta-mercaptoetanol (BME) en Fuidil, (ii) adicionar 25 µl de esta solución reductora a 75 µl del suero problema, (iii) agitar en un vortex y esperar un mínimo de 15 minutos (máximo 30 minutos) y proceder luego del modo habitual.
- Para análisis de Ig D y/o de Ig E, aplicar las mismas diluciones que para las cadenas ligeras libres y ligadas.

2. *Orinas concentradas*

La mayoría de muestras de orina deben ser concentradas. Aplique orina concentrada en todos los carriles. Concentre la orina (con un mecanismo adaptado) hasta alcanzar una concentración de proteínas totales de ≥ 5 g/l o una Ig total de aproximadamente 1 g/l. Si desconoce las concentraciones de proteínas o de Ig en la orina, concentre 20x - 100x. (Con el programa de migración de "IF" estándar, el límite de detección de 150 - 500 mg/l corresponde a la menor concentración de proteína monoclonal en la muestra que da lugar a una banda claramente detectable).

IMPORTANTE: Algunas orinas presentan un alto contenido de sales. Esto puede provocar que el gel se deforme durante la migración y, por lo tanto, distorsión de los perfiles electroforéticos. Para evitar este problema es necesario eliminar las sales con una diálisis.
En caso de orinas turbias (concentradas o no), se recomienda eliminar las partículas, centrifugando las muestras (durante 10 minutos a 3000 rpm) o por filtración (en un filtro de 0,45 µm) para obtener una buena difusión en los aplicadores.

Se puede aumentar la sensibilidad en el análisis de orinas incrementando la aplicación de muestra y el tiempo de incubación de los antisueros utilizando el programa de migración "BENCE JONES". Entonces, el límite de detección corresponde a 10 - 50 mg/l de proteína monoclonal. En esta técnica las orinas pueden analizarse sin concentrar o concentradas para mejorar la sensibilidad.

NOTA : No se recomienda intentar incrementar la sensibilidad de la prueba incrementando el grado de concentración. La utilización de orina demasiado concentrada a menudo tiene como resultado la formación de bandas falsas y otros artefactos. Tales muestras pueden tener que ser analizadas de nuevo a concentraciones menores.

Caso particular

Algunas cadenas ligeras tienden a polimerizarse y a formar agregados, y la orina presenta entonces una banda de aspecto " monoclonal " en todos los carriles. Trate las muestras como sigue : mezcle 100 µl de orina y 5 µl de ß-mercaptoetanol diluido previamente a 1/10 con agua destilada o desionizada o con solución salina, agite en el vórtex y deje que incube de 10 a 15 minutos, y luego siga con el procedimiento habitual.

Muestras a descartar

- No utilice muestras de plasma. El fibrinógeno da lugar a una banda cerca del punto de aplicación que puede ser confundida con una inmunoglobulina monoclonal y afectaría al porcentaje de la fracción beta correspondiente.
- No utilice muestras de suero hemolizadas. La hemólisis incrementa las fracciones alfa-2 y beta.
- No utilice muestras de orina muy antiguas o almacenadas incorrectamente en las que pueda haber tenido lugar degradación enzimática de las proteínas.

PROCEDIMIENTO

El sistema HYDRASYS es un instrumento semiautomático multiparamétrico. Las etapas automáticas incluyen el procesamiento de los geles de agarosa HYDRAGEL en la siguiente secuencia: aplicación de la muestra, migración electroforética, secado, tinción, destinción y secado final. Las etapas manuales incluyen el manejo de las muestras y los geles, y la puesta en marcha del instrumento para la operación.
LEER CUIDADOSAMENTE EL MANUAL DE INSTRUCCIONES DEL HYDRASYS / HYDRASYS 2.

I. PUESTA EN MARCHA DE LA MIGRACIÓN

1. Encender el HYDRASYS.
2. Coloque un aplicador para el HYDRAGEL 1 IF ó HYDRAGEL IF 2/4 (2 muestras), dos aplicadores para el HYDRAGEL IF 2/4 (4 muestras) ó 3 aplicadores para el HYDRAGEL 9 IF, en una superficie plana, con los números de los pocillos hacia arriba (Fig. 1).
   - Aplique 10 µl de suero diluido adecuadamente, o de orina concentrada, en los pocillos del aplicador. Cargue cada aplicador en menos de 2 minutos.

	CARRIL MIGRACION / IMMUNOFIJACION					
POCILLOS DE APLICACIÓN :	**ELP**	**G**	**A**	**M**	**K**	**L**
HYDRAGEL 1 IF	1	2	3	4	5	6
HYDRAGEL IF 2/4						
MUESTRA No 1 Ó 3	2	3	4	5	6	7
MUESTRA No 2 Ó 4	9	10	11	12	13	14
HYDRAGEL 9 IF						
MUESTRA No 1, 4 Ó 7	1	2	3	4	5	6
MUESTRA No 2, 5 Ó 8	7	8	9	10	11	12
MUESTRA No 3, 6 Ó 9	13	14	15	16	17	18

NOTA : Los pocillos no. 1, 8 y 15 no se utilizan en esta prueba, por lo que pueden ser señalados con un rotulador para evitar llenarlos con muestra por error.

   - Colocar cada aplicador en la cámara húmeda, con el peine hacia arriba.(asirlos por el plástico protector del peine).

   Ver la hoja de instrucciones de la cámara húmeda para más detalles.
   - Dejar difundir las muestras durante 5 min antes de su aplicación. Para un uso posterior (más de 8 horas), mantener la cámara húmeda en el refrigerador.
3. Abrir la puerta del Módulo de migración y elevar los soportes de los electrodos y el aplicador.

   ATENCIÓN: ¡Nunca cerrar la puerta cuando los soportes están elevados!
4. Seleccione en el menú el programa de migración "1 IF ME/MD" para el HYDRAGEL 1 IF, "2/4 IF ME/MD" para el HYDRAGEL IF 2/4 ó "9 IF ME" para el HYDRAGEL 9 IF.
5. Extraer las esponjas tamponadas de su envoltorio ; asirlas por los extremos de plástico. Engarzar los extremos de plástico agujereados con las puntas metálicas del soporte de los electrodos ; los extremos de plástico deben quedar encarados al soporte (Fig. 2).

6. Abrir el contenedor del HYDRAGEL.
   - Extienda un papel de filtro fino de manera rápida y uniforme sobre la superficie del gel para absorber el exceso de líquido. Retire el papel inmediatamente.

   ADVERTENCIA: Para evitar que se deshidrate, no deje que el papel de filtro contacte con el gel durante mucho tiempo.

   - Dispense 120 µl de agua destilada o desionizada para el HYDRAGEL 1 IF ó 200 µl para el HYDRAGEL IF 2/4 e HYDRAGEL 9 IF, en el tercio inferior del cuadro serigrafiado en la placa del módulo de migración.
   - Colocar el gel (la cara de agarosa hacia arriba) con su lado inferior en contacto con el tope inferior del marco serigrafiado (Fig. 3).
   - Aplicar el gel en la superficie, haciéndolo contactar con el agua (Fig. 3). Asegurarse que no queden burbujas, que el agua esté extendida bajo toda la superficie del gel y y que éste esté alineado con el marco serigrafiado.
7. Devolver ambos soportes a su posición original. Las esponjas tamponadas no deben tocar el gel. NO FORZAR LOS SOPORTES HACIA ABAJO.
8. Extraer el(los) aplicador(es) de la cámara húmeda. Asirlo(s) po el plástico protector.
   - Romper el plástico protector precortado del peine.
   - Ponga el/los aplicador/es en el soporte de los aplicadores:
     - HYDRAGEL 1 IF ó HYDRAGEL IF 2/4 (2 muestras) : posición N° 6,
     - HYDRAGEL IF 2/4 (4 muestras) : posiciones N° 3 y 9,
     - HYDRAGEL 9 IF : posiciones N° 2, 6 y 10.

   IMPORTANTE: Los números impresos en el(los) aplicador(es) deben quedar de cara al usuario (Fig. 4).
9. Cerrar la puerta del módulo de migración.
10. Iniciar el procedimiento inmediatamente, presionando la tecla "START" (flecha verde)en el lado izquierdo del teclado.

   IMPORTANTE: Asegurarse que la toma de aire en el lado derecho del instrumento no está bloqueada.

MIGRACIÓN - DESCRIPCIÓN DE LAS ETAPAS AUTOMÁTICAS

- Los dos soportes descienden, con lo cual esponjas tamponadas y aplicador(es) entran en contacto con la superficie del gel.
- El soporte del aplicador se eleva.
- Migración a 10 W constantes para el HYDRAGEL 1 IF y a 20 W constantes para el HYDRAGEL IF 2/4, hasta que se hayan acumulado 42 Vh (durante unos 9 minutos) y a 20 W constantes hasta que se hayan acumulado 31 Vh (durante unos 7 minutos) para el HYDRAGEL 9 IF, a 20 °C, siendo la temperatura controlada por efecto Peltier.
- El soporte de los electrodos se eleva para desconectar los electrodos.
- Un pitido audible se produce al finalizar la migración. En pantalla aparece el siguiente mensaje: "⇩ AS" / "⇩ ANTISUEROS".

  NOTA: El módulo de migración permanece con la puerta cerrada durante los pasos de migración correspondientes.

II. IMMUNOFIJACION

1. Abrir la tapa del módulo de migración.
2. Extraer los aplicador(es) y desechar.
3. Elevar ambos soportes, extraer las esponjas tamponadas por sus extremos de plástico y desechar.
   - Extraer el portaaplicadores.
   - Limpiar los electrodos son un trapo húmedo.
   - Mantener el gel en su posición dentro de la cámara de migración.
4. Colocar la plantilla de aplicación de antisueros acto siguiente (Fig. 5):
   - La posición de la plantilla de aplicación vendrá determinada por una hendidura existente en la guía metálica (la cual debe permanecer en el módulo de migración todo el tiempo).
   - Sostener la plantilla por la muesca superior e insertarla en la guía (los extremos deben coincidir con los de la superficie serigrafiada).
   - Hacer descender la plantilla hasta que se ponga en contacto con el gel.
   - Ajuste la posición de la plantilla para un alineamiento perfecto entre los perfiles electroforéticos y los pocillos de la plantilla (consulte el kit de accesorios para HYDRASYS 9 IF SEBIA, PN 1265, para las instrucciones).
5. Aplicar los antisueros del modo siguiente:

PISTA	VOL (µl) plantilla 1, 2 y 4 IF	VOL (µl) plantilla 9 IF	REACTIVO	COLOR
ELP	40	20	Solución FIJADORA	Amarillo
G	25	15	ANTISUERO ANTI-GAMMA cadenas pesadas	Rosa
A	25	15	ANTISUERO ANTI-ALFA cadenas pesadas	Azul oscuro
M	25	15	ANTISUERO ANTI-MU cadenas pesadas	Verde oscuro
K	25	15	ANTISUERO ANTI-KAPPA cadenas ligeras (libres o no)	Verde claro
L	25	15	ANTISUERO ANTI-LAMBDA cadenas ligeras (libres o no)	Azul claro

   NOTA: Para evitar mezclar antisueros, éstos se hallan coloreados, de igual modo que la etiqueta presente en los correspondientes viales y la plantilla de aplicación.
   - *Dispensar los antisueros evitando la formación de burbujas de aire en la punta de la pipeta.*
   - *Aplicar los antisueros (Fig. 6) :*
   - *Mantener la pipeta en posición perpendicular a la plantilla, dejando que repose suavemente en el centro del pocillo.*
   - *Inyectar el antisuero mientras va formándose el canal por capilaridad, sin que se formen burbujas en el mismo.*
6. Cerrar la tapa del módulo de migración.
7. Iniciar el procedimiento inmediatamente, presionando la tecla "START", situada a la izquierda del teclado. En pantalla aparece el mensaje "[INCUBACIÓN]".

INMUNOFIJACION - DESCRIPCION DE LOS PASOS AUTOMATIZADOS

- Incubación a 20 °C durante 5 minutos (termostatización mediante efecto Peltier).
- Una señal audible advierte de la necesidad de levantar la tapa. El siguiente mensaje que aparece en pantalla es "⇧ AS (ME)" / "⇧ ANTISUEROS (ME)".

NOTA: La tapa del módulo de migración debe permanecer cerrada durante la incubación.

III. ELIMINACION DEL EXCESO DE REACTIVOS

1. Abrir la tapa.
2. Elimine los reactivos usando los peines de papel de filtro (Fig. 7): Un peine para las plantillas 1 IF y 2 IF, dos peines para la plantilla 4 IF y 3 peines para la plantilla 9 IF.
   - Insertar cada peine formando un ángulo de 30° en los hueco situados en el límite inferior de la plantilla, hasta que toque la cara vertical más alejada del operador.
   - Permitir que el peine toque delicadamente el líquido,formando un ángulo de 45°, permitiendo la absorción del mismo. (Fig. 8).

   IMPORTANTE: Cada peine debe permanecer inclinado (45°).Si se coloca derecho puede llegar a dañar la superficie del gel.
3. Apretar la tecla "START" (flecha verde situada a la izquierda en el teclado).

ELIMINACION DE REACTIVOS - DESCRIPCION DE LOS PASOS AUTOMATIZADOS

- Los antisueros difunden durante 15 segundos a 20 °C (Temperatura controlada mediante efecto Peltier).
- En este momento, suena una alarma audible. El sisguiente mensaje que aparece en pantalla es: "⇩ PAP." / "⇩ PAPEL FILTRO GRUESO".

IV. BLOTTING

1. Eliminar los peine(s).
2. Comprobar visualmente que los antisueros se han eliminado de forma correcta, lo cual podremos saber por:
   - Ausencia de antisueros en la superficie del gel.
   - Los extremos del peine se hallan coloreados en su totalidad.

   Si la absorción es incompleta, introducir el mismo peine (y en la misma posición), repitiendo de forma manual el procedimiento de eliminación.
3. Coger el aplicador de reactivos por la pestaña elevar y quitar.
4. Aplicar un papel de filtro grueso sobre el gel:
   - Alinear los bordes del papel con el gel (inclinrlo con un ángulo de 45°).
   - Colocarlo encima del gel suavemente.

   ATENCIÓN : Asegurarse de apoyar correctamente toda la superficie de la hoja de papel de filtro, para conseguir un perfecto contacto entre el gel y el papel.
5. Cerrar la tapa del módulo de migración.
6. Apretar la tecla "START" (flecha verde situada a la izquierda en el teclado).
7. Limpiar la plantilla de aplicación con un pequeño cepillo(por ej. de dientes). NO UTILIZAR ALCOHOL O DISOLVENTES. Verificar que la plantilla se encuentra perfectamente seca antes de ser reutilizada ; eliminar las pequeñas gotas de agua con un papel de filtro suave.

BLOTTING - DESCRIPCION DE LOS PASOS AUTOMATIZADOS

- Blotting a 40 °C controlado mediante efecto Peltier, durante 3 minutos.
- Suena una señal audible. El siguiente mensaje que aparece en pantalla es: "⇧ PAP." / "⇧ PAPEL FILTRO GRUESO".

V. SECADO DEL GEL

1. Abrir la tapa del módulo de migración
2. Extraer el papel de filtro, dejando el gel en su posición actual.
3. Cerrar la tapa.
4. Apretar la tecla "START" (flecha verde situada a la izquierda en el teclado).

SECADO - DESCRIPCION DE LOS PASOS AUTOMATIZADOS

- Secado a 50 °C controlado mediante efecto Peltier, durante 6 minutos.
- Un pitido nos indica que debemos levantar la tapa. El gel permanecerá a 50 °C mientras la tapa permanece cerrada.

NOTA: El módulo de migración permanece cerrado mientras se produce el proceso de secado.

VI. PROCESADO DEL GEL

1. Abrir la tapa.
2. Extraer el gel(una vez seco) para su procesado posterior.
3. Abrir el soporte del gel. Colocar el gel seco (con la superficie mirando hacia arriba) en los orificios de las dos varillas y cerrar el soporte. Comprobar que el gel está colocado adecuadamente dentro del soporte. (Fig. 9).
4. Colocar el soporte en el Módulo de Procesado / Coloración.

   IMPORTANTE: Antes de comenzar con el procesado / coloración comprobar lo siguiente:
   - Contenedor de Solución de lavado: contenido mínimo de 400 ml ;
   - Contenedor de Colorante: 300 ml de colorante ;
   - Contenedor de Decolorante: como mínimo 1 litro ;
   - Contenedor de Deshechos vacío ;
   - Los canales no utilizados deberán taparse.
5. Seleccionar el programa de coloración "IF ACID VIOLET" o "IF AMIDO" e iniciar el proceso apretando la tecla "START" (flecha verde situada a la derecha en el teclado).

   Durante todas las secuencias de coloración, decoloración y secado, el sistema permanece bloqueado.
   Después del enfriamiento de la cubeta, una señal sonora (bip) suena y el sistema se desbloquea (la ventilación se mantiene hasta la recuperación del porta-films).

NOTAS:
- *La temperatura de la placa de migración puede descender hasta 20 °C mientras permanezca abierta la tapa (en menos de 5 minutos). En este momento podremos iniciar una nueva migración.*
- *Volver a colocar el portaaplicadores en su ubicación original.*
- *Lavar la placa de migración con un trapo suave ligeramente humedecido.*

VII. PROCESADO DEL GEL: FINALIZACION DEL PROCEDIMIENTO

1. Retirar el soorte del compartimento,abrirlo y extraer el gel ya seco.
2. Si procede, limpiar el reverso del gel (soporte plástico) con un trapo seco y suave.

NOTA: En los geles con varias filas de muestras (2 ó 3), las longitudes de migración pueden ser ligeramente diferentes, sin ninguna repercusión en los resultados.

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda analizar un suero control (como el Control IT / IF SEBIA, referencia nº 4788) después de cada cambio de lote de uno de los reactivos.

RESULTADOS

Interpretacion

1. *Suero*

Ausencia de componentes monoclonales

- Un suero normal muestra una tinción tenue y difusa de las inmunoglobulinas policlonales en todas las pistas.
- Una hipergammaglobulinemia se caracteriza por una tinción fuerte y difusa en la zona de las gamma, sin presentar bandas claramente definidas.

Presencia de componentes monoclonales

- La presencia de una proteina monoclonal(gammapatía) se caracteriza por una banda monoclonal en las pistas gamma, alfa o mu, y en la pista kappa o lambda indistintamente. La banda monoclonal detectada, normalmente bien definida y focalizada, deberá estar posicionada a la misma altura que la previsible banda monoclonal localizada en la pista de referencia (ELP).
- Si no hay reacción con uno de los antisueros anti-cadenas pesadas aplicados y hay reacción con uno de los antisueros anti-cadenas ligeras, eso puede significar :
  a) la presencia de una gammapatía de Ig D ó Ig E que habrá que confirmar con los antisueros anti-cadenas pesadas detla o épsilon.
  b) la presencia de una cadena ligera libre que habrá que confirmar con los antisueros específicos anti-cadenas ligeras libres kappa o lambda.
- La presencia de bandas en alguna de las pistas correspondientes a los antisueros anti cadenas ligeras y a su vez en las pistas corresponcdientes a los antisueros cadenas pesadas puede indicarnos una Gammapatía de cadenas pesadas (muy poco frecuente).

Presencia de dos o más componentes monoclonales

En algunos casos, la proliferación de varios clones de células B se muestran como varias bandas al realizar una inmunofijación :
- Una gammapatía biclonal se caracteriza por la presencia de dos bandas en la zona correspondiente al las cadenas pesadas (iguales o diferentes) y dos bandas en la correspondiente a las cadenas ligeras (iguales o diferentes).
- La presencia de inmunoglobulinas con diferentes grados de polimerización se manifiesta mediante la aparición de varias bandas en una misma pista cadenas pesadas, sucediendo lo mismo lo con las cadenas ligeras. Para confirmar la presencia de una anormalidad monoclonal simple es necesario despolimerizar con beta mercaptoetanol y repetir la inmunofijación (ver "Muestras para el análisis").
- Una gammapatia oligoclonal se caracteriza por la presencia de múltiples bandas de uno ó más tipos (cadenas pesadas) y uno ó más tipos (cadenas ligeras).

Casos especiales

- Cuando se observa una banda monoclonal en la electroforesis (pista ELP), mas no se confirma mediante inmunofijación, debe sospecharse la presencia de fibrinógeno (plasma como muestra).
- Cuando se aprecia una única banda en todas las pistas podemos pensar en la presencia de una crioglobulina o una Ig M polimerizada. Despolimerizar con un agente reductor y repetir el procedimiento (ver "Muestras para análisis").
- En algunos casos de gammapatías de Ig A, el antisuero anti-cadenas ligeras puede presentar baja afinidad por la inmunoglobulina monoclonal, lo que dificulta su detección. En ese caso, se aconseja realizar la inmunofijación con el programa BENCE JONES, en el que la reacción está amplificada debido a un tiempo de incubación con el antisuero más largo (vea las instrucciones de uso de los kits HYDRAGEL BENCE JONES para saber cómo diluir los sueros).
- En caso de fondo policlonal importante, se aconseja aumentar la dilución de la muestra en los carriles de antisueros, especialmente en el carril Ig G.
- HYDRAGEL 9 IF: En los casos de gammapatías oligoclonales, se recomienda realizar las inmunofijaciones usando las técnicas HYDRAGEL 1, 2 ó 4 IF para obtener una mejor resolución en la zona gamma, ya que la zona de las gammaglobulinas es más alargada y facilita la visualización de bandas múltiples.

2. *Orina concentrada*

Al interpretar los patrones de inmunofijación de la orina se aplican conceptos de interpretación parecidos a los del suero.
- Una proteína monoclonal intacta en la orina se caracteriza por una banda monoclonal detectada con uno de los antisueros anti-cadenas pesadas (gamma, alfa o mu) y con cualquiera de los antisueros anti-cadenas ligeras kappa o lambda (libres y unidas). La banda monoclonal detectada, normalmente de apariencia definida y localizada, debe estar situada en la misma distancia de migración que la banda monoclonal sospechosa observada en el carril de referencia (ELP).
- Una cadena ligera libre, Bence Jones, está caracterizada por una banda monoclonal detectada con uno de los antisueros anti-cadenas ligeras kappa o lambda. No se observa reacción positiva en ninguno de los carriles de antisueros anti-cadenas pesadas (gamma, alfa o mu).

Interferencias y limitaciones

Vea **MUESTRAS PARA ANILISIS**.

La presencia de fibrinógeno o de fibrina residual puede implicar que aparezca una banda artefactual en todos los carriles; la intensidad de la banda puede variar según el carril, y generalmente es más intensa en el carril revelado con el antisuero anti-Ig A.

La utilización de antisueros distintos a los especificados para la técnica de inmunofijación realizada con la plantilla estándar puede afectar a la calidad de los resultados.

Teniendo en cuenta los principios analíticos de las técnicas actuales (principios de la electroforesis de zona, resolución y sensibilidad), no puede darse ninguna garantía respecto a la detección de la totalidad de todos los componente monoclonales.

Resolución de problemas

Avisar al Servicio de Atención Técnica del distribuidor cuando el test no funcione, pese a haber seguido cuidadosamente las instrucciones para la preparación y almacenaje de los materiales y para el procedimiento a seguir.

Las hojas de seguridad de los diferentes reactivos del kit, así como las informaciones relativas a la eliminación de los desechos, están disponibles en el Servicio de Asistencia Técnica de su distribuidor.

CARACTERISTICAS TECNICAS

HYDRAGEL 4 IF

Reproducibilidad intraserial y especificidad

La reproducibilidad intraserial se demostró con tres muestras patológicas, respectivamente con un componente monoclonal de nivel elevado y uno de nivel bajo y con una muestra con dos componentes monoclonales. Cada muestra se analizó en dos lotes de geles HYDRAGEL IF 2/4 utilizando el procedimiento de tinción con violeta ácido. Todas las muestras examinadas proporcionaron resultados idénticos en los dos lotes, mostrando los patrones típicos y como se esperaba para el tipo de muestra probado.

Reproducibilidad interserial y especificidad

La reproducibilidad interserial se demostró con cuatro muestras patológicas en 20 geles HYDRAGEL IF 2/4 de dos lotes diferentes, utilizando el procedimiento de tinción con violeta ácido. Todas las muestras examinadas proporcionaron resultados idénticos en todos los geles, mostrando los patrones típicos y como se esperaba para el tipo de muestra probado.

Exactitud

Se analizaron treinta y dos (32) muestras patológicas diferentes usando geles HYDRAGEL IF 2/4 y otro sistema comercial de inmunofijación en geles de agarosa. Los geles HYDRAGEL IF 2/4 se probaron con el procedimiento de tinción con violeta ácido. Se detectaron bandas idénticas en todas las muestras patológicas con cada uno de los dos sistemas.

Sensibilidad

Se prepararon diluciones seriales con 3 muestras patológicas que contenían componentes monoclonales. Se usaron los procedimientos de tinción con violeta ácido y negro amido.

Los resultados se resumen abajo.

	COMPONENTE MONOCLONAL		LIMITE DE DETECCIÓN (g/l)	
MUESTRA No.	TIPO	CONC. (g/l)	HYDRAGEL 4 IF NEGRO AMIDO	HYDRAGEL 4 IF VIOLETA ÁCIDO
1	alfa	5,3	0,25	0,25
1	kappa	5,3	0,25	0,25
2	mu	10,9	0,12	0,12
2	lambda	10,9	0,25	0,25
3	gamma	17,2	0,50	0,25
3	lambda	17,2	0,12	0,06

HYDRAGEL 9 IF

Reproducibilidad intraserial

La reproducibilidad intraserial se demostró utilizando tres muestras de suero patológicas con un nivel elevado, medio y bajo de componente monoclonal respectivamente. Cada muestra se analizó en dos lotes de geles HYDRAGEL 9 IF utilizando el procedimiento de tinción con violeta ácido. Todas las muestras examinadas proporcionaron resultados idénticos en los dos lotes, mostrando los patrones típicos y como se esperaba para el tipo de muestra probado. La inmunofijación mostró repetidamente las bandas monoclonales esperadas en las tres muestras patológicas.

Reproducibilidad interserial

La reproducibilidad interserial se demostró con nueve muestras de suero patológicas. Las muestras se analizaron en tres lotes de geles HYDRAGEL 9 IF utilizando el procedimiento de tinción con violeta ácido. Todas las muestras examinadas proporcionaron resultados idénticos en los tres lotes, mostrando los patrones típicos y como se esperaba para el tipo de muestra probado.

Exactitud

Se analizaron cincuenta y ocho (58) muestras diferentes usando el kit HYDRAGEL 9 IF y otro sistema comercial de inmunofijación en geles de agarosa. Los geles HYDRAGEL 9 IF se probaron con el procedimiento de tinción con violeta ácido. Se detectaron bandas idénticas en todas las muestras patológicas con cada sistema o procedimiento.

Sensibilidad

Se prepararon diluciones seriales con seis muestras de suero patológicas que contenían componentes monoclonales.

Los resultados se resumen abajo.

	COMPONENTE MONOCLONAL		**LÍMITE DE DETECCIÓN (g/l)**	
MUESTRA No	**TIPO**	**CONC. (g/l)**	**HYDRAGEL 9 IF**	**TEST COMPARADO**
1	gamma	55,0	0,25	0,25
1	kappa	55,0	0,12	0,12
2	gamma	25,1	0,25	0,25
2	lambda	25,1	0,06	0,06
3	alfa	15,4	0,25	0,25
3	kappa	15,4	0,25	0,25
4	alfa	15,1	0,12	0,12
4	lambda	15,1	0,12	0,12
5	mu	9,0	0,12	0,12
5	kappa	9,0	0,25	0,25
6	mu	9,1	0,12	0,12
6	lambda	9,1	0,25	0,25

BIBLIOGRAPHIE / BIBLIOGRAPHY

Pour des informations complémentaires sur l'interprétation des profils obtenus par immunofixation, voir :
For additional information on interpretation of immunofixation patterns refer to:

1. Le Carrer Didier, "Électrophorèse des Protéines et Immunofixation : Guide d’interprétation", Laboratoires SEBIA, 1994, Hatier - Paris.
2. Keren D. F., "High Resolution Electrophoresis and Immunofixation Techniques and Interpretation", Butterworth-Heinemann, Woburn, Ma, USA, 2nd ed., 1994, 397 pp.

SCHÉMAS / FIGURES

Figure 1

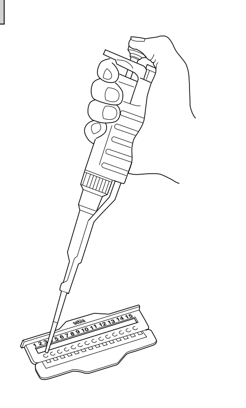


Figure 2

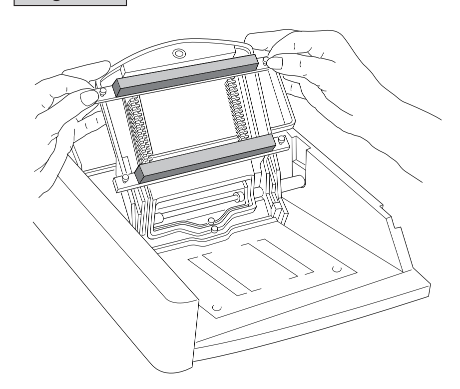


Figure 3

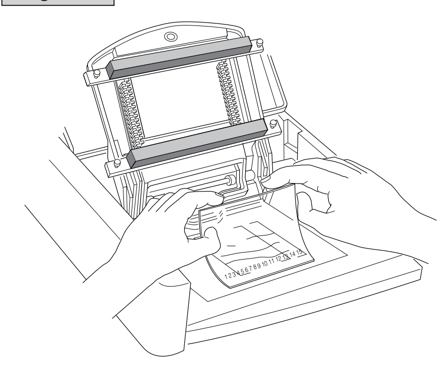


Figure 4

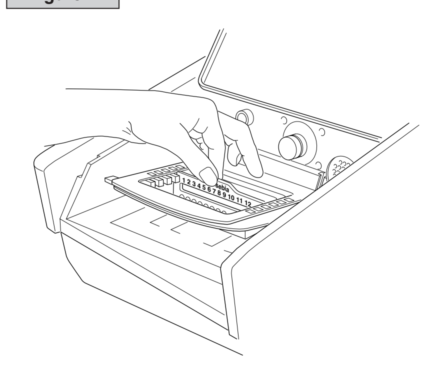


Figure 5

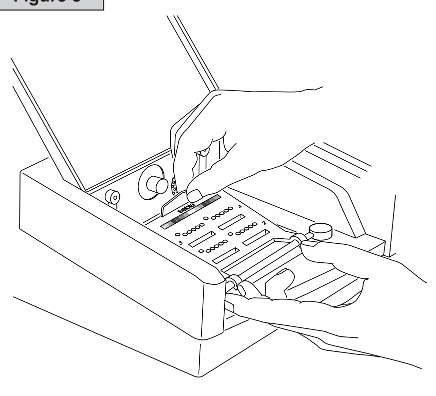
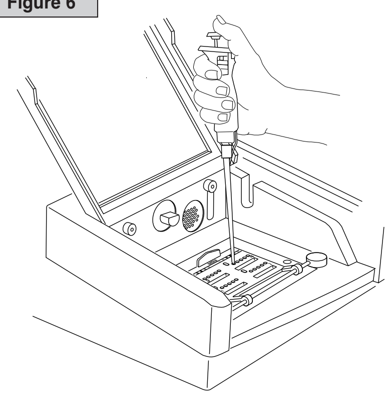


Figure 6



SCHÉMAS / FIGURES

Figure 7

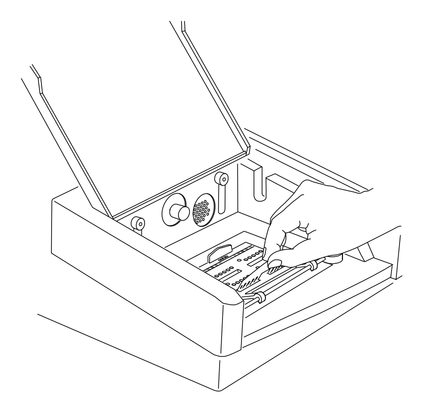


Figure 8

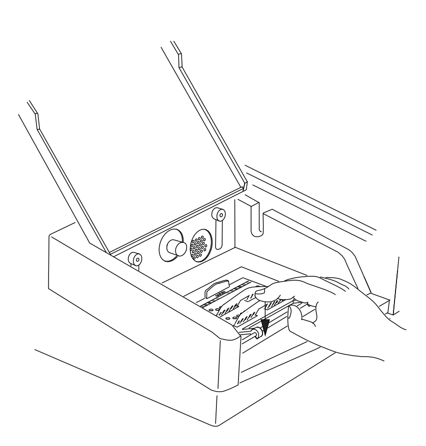


Figure 9

